

PraenaTest®

Nicht invasiver
pränataler Test (NIPT)



 eurofins | Pränatal-Medizin



Faktenübersicht zur genetischen Beratung PraenaTest® *Flex*

-  RAAs – Seltene autosomale Aneuploidien
-  22q11.2 Mikrodeletion
-  CNVs – Copy Number Variations

RAAs – Seltene autosomale Aneuploidien

Seltene autosomale Aneuploidien (rare autosomal aneuploidies; RAAs)
 Dies sind Trisomien oder Monosomien der Chromosomen 1 – 12, 14 – 17 sowie 19 – 22 sowie Monosomien der Chromosomen 13, 18 und 21.

Basis Screening				
Trisomie 21	Trisomie 18	Trisomie 13	Gonosomale Aneuploidien	RAA
0,30% ¹	0,10% ¹	0,10% ¹	0,48% ²	0,34% ³
Inzidenz				
0,50%			0,48%	0,34%

* bei gonosomalen Aneuploidien und RAA wurden die Inzidenzen der verschiedenen Chromosomenaberrationen addiert

Wie ist die Testgenauigkeit der Untersuchung?

Sensitivität und Spezifität für seltene autosomale Aneuploidien (rare autosomal aneuploidies; RAAs); mit bekannten Mosaiken⁴

Sensitivität	Spezifität
Schätzwert (n/N)	
96,4% (27/28)	99,80% (2.001/2.005)
2-seitiges 95%-KI	
82,3%, 99,4%	99,49%, 99,92%

Was bedeutet ein positives Testergebnis?

Das NIPT-Testergebnis weist auf das Vorhandensein einer seltenen autosomalen Aneuploidie hin. Besprechen Sie das Testergebnis und die möglichen klinischen Auswirkungen mit Ihrer Patientin. Laut Empfehlungen internationaler Fachgesellschaften wird zur Absicherung des Testergebnisses eine weitere ärztliche Abklärung, üblicherweise in Form einer invasiven Diagnostik, dringend empfohlen. Im Falle von diskordanten Ergebnissen bitten wir um Rückmeldung.

Bitte bedenken Sie:

NIPT ist ein Screening-Test. Es können falsch-positive Ergebnisse auftreten. Die tatsächliche Wahrscheinlichkeit für eine seltene autosomale Aneuploidie während der Schwangerschaft hängt von vielen Faktoren ab, einschließlich der klinischen und familiären Vorgeschichte Ihrer Patientin.

Chromosomale Anomalien beim Fötus	Begrenzttes plazentares Mosaik
Potenzielle klinische Ergebnisse bei positivem Testergebnis	
	Plazentainsuffizienz
	Präeklampsie
	Frühgeburt
	Fehlgeburt
	IUGR
	IUFD
	Fetale Anomalien
	Keine klinischen Befunde

Die möglichen klinischen Auswirkungen nach einem positiven Testergebnis sind unterschiedlich und chromosomenabhängig. In manchen Fällen gibt es keine offensichtlichen klinischen Befunde.

Weiterführende Literatur

Mardy A, Wapner RJ. Confined placental mosaicism and its impact on confirmation of NIPT results. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2016;172(2):118-22.
 Kalousek DK, Barrett I. Confined placental mosaicism and stillbirth. *Pediatr Pathol* Januar-Februar 1994;14(1):151-9.
 Kalousek DK. Confined placental mosaicism and intrauterine development. *Pediatr Pathol.* 1990;10(1-2):69-77.

1 Galjaard RJ et al. Implementing NIPT as part of a national prenatal screening program: The Dutch TRIDENT studies. *Prenat Diagn* 2018;38(S1):8

2 Scott et al. Rare autosomal trisomies: Important and not so rare. *Prenat Diagn* 2018;38:765-71

3 Pertile MD Genome-wide cell-free DNA-based prenatal testing for rare autosomal trisomies and subchromosomal abnormalities.

In: *Noninvasive Prenatal Testing*, Academic Press 2018, Eds Page-Christiaens and Klein

4 Illumina VeriSeq NIPT Solution v2 Packungsbeilage, Dokument-Nr. 1000000086774 v02 DEU, August 2019

Ein positives NIPT-Testergebnis für bestimmte autosomale Trisomien geht mit einem erhöhten Risiko für ein auf die Plazenta beschränktes Mosaik (confined placental mosaicism; CPM) und einem daraus resultierenden erhöhten Risiko für eine uniparentale Disomie (UPD) einher.

Arten chromosomaler Mosaik

Bestimmte chromosomale Anomalien führen zu einem auf die Plazenta beschränktes Mosaik (confined placental mosaicism; CPM). CPM kann mit einem erhöhten Risiko für eine veränderte Plazentafunktion einhergehen, die eine intrauterine Wachstumsverzögerung (IUGR), das Absterben des Fötus und das Risiko einer uniparentalen Disomie (UPD) zur Folge haben kann.



Allgemeines Mosaik
Mindestens zwei chromosomal unterschiedliche Zelllinien in der Plazenta und im Fötus.



Begrenztes plazentares Mosaik (CPM)
Mindestens zwei chromosomal unterschiedliche Zelllinien in der Plazenta, jedoch nicht im Fötus.



Fetales Mosaik (CFM)
Mindestens zwei chromosomal unterschiedliche Zelllinien im Fötus, jedoch nicht in der Plazenta.

● Normale Zellen ● Zellen mit abnormen Chromosomen

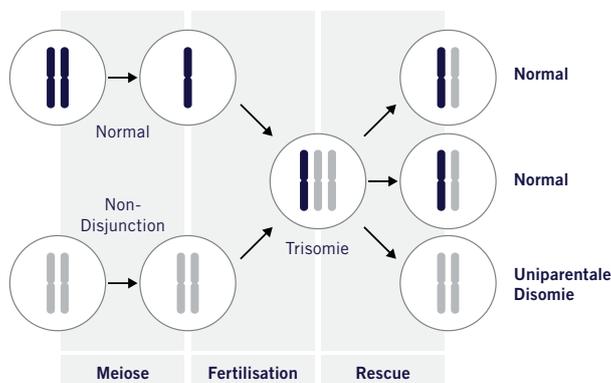
Über die Häufigkeit, mit der CPM auftreten, gibt es noch wenige Daten. Wegner und Stumm berichten, dass bei 1–2% von untersuchten Chorionzotten plazentabegrenzte Mosaik nachgewiesen werden.⁵

Weiterführende Literatur

Grati FR. J Clin Med. 2014;3(3):809-837.
Van Opstal D, et al. PLoS One. 2016;11(1):e0146794.
Kalousek DK. Pediatr Pathol. 1990;10(1-2):69-77.

Uniparentale Disomie (UPD)

Eine uniparentale Disomie (UPD) liegt vor, wenn zwei Kopien eines bestimmten Chromosoms nur von einem Elternteil vorhanden sind. Das klinische Erscheinungsbild ist unterschiedlich. Im Falle eines auf die Plazenta beschränkten Mosaiks tritt UPD überwiegend aufgrund von Trisomy Rescue (Verlust des singulären Homologen bei einer trisomen Zygote) auf.



Die UPD bestimmter imprinteter Chromosomen (d.h. spezifisch methylierter Regionen auf den jeweiligen Chromosomen) kann zu genetischen Erkrankungen (bspw. Angelman- und Prader-Willi-Syndrom) führen. Für die Diagnose einer UPD sind zusätzliche spezialisierte Tests erforderlich.

Weiterführende Literatur

Kotzot D, Utermann G. Uniparental disomy (UPD) other than 15: phenotypes and bibliography updated. Am J Med Genet A 2005; 136: 287 – 305.
Shaffer LG, Agan N, Goldberg JD et al. American College of Medical Genetics statement of diagnostic testing for uniparental disomy. Genet Med 2001; 3: 206 – 211.

22q11.2 Mikrodeletion

- Mikrodeletion (Verlust von Erbinformation) von zirka 3 Millionen Basen (3 Megabasen) auf dem langen Arm dem Chromosoms 22 an Position 11
- Assoziiert mit dem DiGeorge- und Velo-Cardio-Faziale-Syndrom
- Tritt zu 90% spontan auf, wobei 6%–28%⁹ auch erblich bedingt sein können
- Klinische Ausprägungen, insbesondere Herzfehler, variieren je nach Verlust der Erbinformation

Bestimmung einer 22q11.2 Mikrodeletion

Nicht invasiver pränataler Test zum Ausschluss oder Nachweis einer 22q11.2 Mikrodeletion¹⁰ bei Einlingsschwangerschaft (auf Basis der proprietären & CE-markierten Software dmap)

Als Zusatzanalyse mit PraenaTest® Flex möglich

Testergebnis nur bei cffDNA-Gehalt $\geq 10\%$ & Erfüllung weiterer Qualitätskriterien

Sind Kriterien nicht erfüllt: keine Wiederholung, keine Rechnungsstellung

Testergebnis i.d.R. innerhalb 4–6 Arbeitstage¹¹ (zzgl. zur Analyse der Trisomien 21/18/13)

Aussagekraft des PraenaTest® bei der 22q11.2 Mikrodeletion

Im Rahmen der Validierung wurde eine interne verblindete Studie inklusive positivem Probenmaterial durchgeführt. Alle analysierten Proben, welche die Qualitätskriterien erfüllten, wurden korrekt klassifiziert.

Die erwartete Sensitivität beträgt 85%, die Spezifität 99,65%. In der klinischen Routine werden zirka 45% aller Proben die Qualitätskriterien erfüllen, d.h. für diese Proben werden aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden können.

Grenzen der Untersuchungsmethode

cffDNA-Gehalt

Die Analyse ist derzeit möglich bei Proben, die einen cffDNA-Gehalt von mindestens 10% aufweisen. Weitere Qualitätskriterien müssen ebenfalls erfüllt sein.

Mutter ist Trägerin der Mikrodeletion

Es ist möglich, dass die Mutter Trägerin der 22q11.2 Mikrodeletion ist, nicht aber ihr ungeborenes Kind. Dies kann zu diskordanten (falsch-positiven) Testergebnissen führen.

Größe der Mikrodeletion

Bei mehr als 85% der Betroffenen umfasst die Deletion eine Region in der Größe von zirka 2,5 Megabasen im Bereich 22q11.2 des Chromosoms 22. Diese Region wird mit dem PraenaTest® untersucht. Ein geringer Anteil der Betroffenen weist eine noch kleinere Deletion oder Punktmutation in der betroffenen Region auf, welche mit dem PraenaTest® nicht nachweisbar ist. Dies kann zu diskordanten (falsch-negativen) Testergebnissen führen.

Mikroduplikation in der untersuchten Genregion

In der untersuchten Genregion von Chromosom 22 können auch Mikroduplikationen auftreten. Diese werden mit dem PraenaTest® nicht bestimmt.

Anlass der genetischen Untersuchung

Diese Analyse ist insbesondere sinnvoll bei sonografischen Auffälligkeiten, beispielsweise beim Organscreening, welche mit einem DiGeorge- bzw. Velo-Cardio-Faziale-Syndrom korrelieren könnten:

- Angeborener Herzfehler
- Nachweis einer Arteria Lusoria
- Nierenfehlbildung
- Wachstumsretardierung
- (Lippen-Kiefer)-Gaumenspalte
- Vergrößerte Nackentransparenz
- Kleiner Thymus

Klinische Routine

- Zirka 7.000 Analysen seit Juni 2016
- Bisher keine Rückmeldungen von Ärzten zu diskordanten Ergebnissen
- Trotzdem: Falsch-positive oder -negative Ergebnisse sind möglich

Bitte beachten Sie:

Der cffDNA-Gehalt fällt sehr individuell aus und steigt erst bei späterer SSW an. Daher ist es möglich, dass aufgrund eines zu geringen cffDNA-Gehalts kein Testergebnis erzielt werden kann. Eine neue Blutprobe wird nicht angefordert, sofern der cffDNA-Gehalt zur Bestimmung der fetalen Trisomien 13, 18, 21 sowie gonosomaler Aneuploidien ausreicht.

SSW 12–14

SSW 19–23

Proben mit cffDNA $\geq 10\%$

51,99%

64,80%

Proben mit cffDNA $< 10\%$

48,01%

35,20%

Korrelation zwischen cffDNA-Gehalt und SSW auf Basis von Daten aus der klinischen Routine (12/2018 – 03/2019)

⁹ Fernández L et al. Higher frequency of uncommon 1.5-2 Mb deletions found in familial cases of 22q11.2 deletion syndrome. Am J Med Genet A. 2005 Jul 1;136(1):71-5.

¹⁰ OMIM# der Krankheit: 188400 (DGS), 192430 (VCS)

¹¹ Mo. – Fr, ohne Feiertage

CNVs – Copy Number Variations

Partielle Duplikationen und Deletionen (CNVs – Copy Number Variations) ab einer Größe von 7 Millionen Basenpaaren (7 Megabasen, 7 Mb)

Neben freien Monosomien und Trisomien können auch subchromosomale strukturelle Veränderungen, sogenannte partielle Duplikationen und Deletionen (Copy Number Variations, CNVs), die Entwicklung eines Feten bzw. Kindes beeinflussen. Der PraenaTest® kann CNVs der Chromosomen 1 – 22 ab einer Größe von 7 Mb detektieren.

Positivrate erweitertes NIPT Screening, alle Risikogruppen ^{6,7}					
Trisomie 21	Trisomie 18	Trisomie 13	Gonosomale Aneuploidien	RAA	CNVs (≥ 7 Mb)
0,39%	0,13%	0,04%	0,39%	0,34%**	0,10%
Gesamt					
0,56%			0,39%	0,44%	

* Bei gonosomalen Aneuploidien und RAAs wurden die Positivraten der verschiedenen Chromosomenaberrationen addiert.

** Die Studie umfasst nur seltene autosomale Trisomien. Die Screening-Positiv-Rate für alle RAAs, zu denen auch Monosomien gehören, liegt vermutlich geringfügig höher als die für seltene autosomale Trisomien berichtete Rate.

Wie ist die Testgenauigkeit der Untersuchung?

Sensitivität und Spezifität für partielle Deletionen und Duplikationen ab 7 Mb (CNVs); mit bekannten Mosaiken⁸

	Sensitivität	Spezifität
Schätzwert (n/N)	74,1 % (20/27)	99,8 % (2000/2004)
2-seitiges 95%-KI	55,3 %	99,49 %
	86,8 %	99,92 %

Die Sensitivität gibt hierbei die Wahrscheinlichkeit an, mit der eine tatsächlich vorhandene Chromosomenstörung im Test als positiv („auffällig“) erkannt wird. Die Spezifität gibt die Wahrscheinlichkeit an, mit der eine nicht vorhandene Chromosomenstörung als negativ („unauffällig“) erkannt wird.

Was bedeutet ein positives Testergebnis?

Ein positives Testergebnis weist auf das Vorhandensein einer CNV hin. Der Phänotyp ist abhängig von der Größe der betroffenen Chromosomenregion bzw. von den Genen, die in dieser Region liegen. Auch ist es möglich, insbesondere bei kleineren CNVs, dass kein klinischer Phänotyp ausgebildet wird. Die hohe Genauigkeit des PraenaTest® wurde in klinischen Studien bewiesen. In sehr seltenen Fällen sind jedoch falsch-positive oder falsch-negative Ergebnisse möglich. Bei einem positiven Testergebnis empfehlen wir, gemäß §10 GenDG, die Vorstellung bei einer Fachärztin/einem Facharzt für Humangenetik zur Klärung der Ätiologie und klinischen Auswirkung. Im Falle von diskordanten Ergebnissen bitten wir um Rückmeldung.

Bitte bedenken Sie:

NIPT ist ein Screening-Test. Es können falsch-positive sowie falsch-negative Ergebnisse auftreten. Die tatsächliche Wahrscheinlichkeit für eine partielle Duplikation oder Deletion während der Schwangerschaft hängt von vielen Faktoren ab, einschließlich der klinischen und familiären Vorgeschichte der Patientin.

6 Pertile MD Genome-wide cell-free DNA-based prenatal testing for rare autosomal trisomies and subchromosomal abnormalities. In: Noninvasive Prenatal Testing, Academic Press 2018, Eds Page-Christians and Klein

7 Liang et al. Clinical utility of noninvasive prenatal screening for expanded chromosome disease syndromes. Genetics in Medicine 2019; doi.org/10.1038/s41436-019-0467-4

8 Illumina VeriSeq NIPT Solution v2 Packungsbeilage, Dokument-Nr. 100000078751 v06 DEU, August 2021

Potenzielle klinische Ergebnisse

CNVs können assoziiert sein mit:

- Neurologischen Auffälligkeiten (motorische und kognitive Retardierung)
- Dysmorphen Merkmalen (v.a. craniofaciale Dysmorphie, Wachstumsretardierung)
- Fehlbildungen innerer Organe (v.a. Herz)

Bitte bedenken Sie, dass ein negatives Ergebnis nicht zwangsläufig bedeutet, dass kein klinisches Krankheitsbild vorliegt. Je nach Krankheitsbild kann die Größe der kritischen Region, deren Duplikation bzw. Deletion zur Ausprägung eines Krankheitsbildes führt, auch < 7 Mb sein. CNVs bzw. Mikrodeletionen < 7 Mb (mit Ausnahme des Di-George-Syndroms^{***}) werden durch den PraenaTest nicht detektiert.

Limitationen

- Der PraenaTest® kann CNVs erst ab einer Größe von 7 Mb detektieren
- Balancierte Translokationen werden nicht detektiert
- Gonosomale CNVs werden nicht detektiert
- Maternale CNVs können das Ergebnis beeinflussen

Zudem gelten die generellen Limitationen des NIPT.

Weitere Informationen hierzu finden Sie auf unserer Website (<https://www.praenaforyou.com/produkte/praeenatest/arztinformation>).

Im Zusammenhang mit CNVs sind u.a. folgende Krankheitsbilder beschrieben

- Prader-Willi-Syndrom
- Angelman-Syndrom
- Cri-du-chat-Syndrom
- Wolf-Hirschhorn-Syndrom
- Trisomie 9q
- Trisomie 10q

CNVs sind nicht zwingend von klinischer Bedeutung bzw. mit einem bestimmten Syndrom assoziiert. Sie können klinisch unauffällig sein. Eine Literaturrecherche kann helfen, die klinische Bedeutung der individuellen CNVs besser zu verstehen und zu bewerten.

^{***} Die Untersuchung auf das Di-George-Syndrom (22q11.2 Mikrodeletion) kann separat angefordert werden und ist nicht Teil der CNV Analyse. Weitere Informationen hierzu finden Sie auf dem Faktenblatt zur 22q11.2 Mikrodeletion.

Weitere Ressourcen:

Gardner RJ and Amor DJ. Gardner and Sutherland's Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling. 5th ed. New York, NY: Oxford University Press; 2018.

Jones, Kenneth Lyons. Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation. 7th ed. Philadelphia, PA: W.B. Saunders Company; 2013.

Snyder M et al. Copy-Number Variation and False Positive Prenatal Aneuploidy Screening Results. New Engl J Med 2015; DOI: 10.1056/NEJMoa1408408.

Battaglia A, Carey JC, South ST. Wolf-Hirschhorn syndrome: A review and update. Am J Med Genet C Semin Med Genet. 2015 Sep;169(3):216–23. doi: 10.1002/ajmg.c.31449.

Xing Y, Holder JL Jr, Liu Y, Yuan M, Sun Q, Qu X, Deng L, Zhou J, Yang Y, Guo M, Cheung SW, Sun L. Prenatal diagnosis of Wolf-Hirschhorn syndrome: from ultrasound findings, diagnostic technology to genetic counseling. Arch Gynecol Obstet. 2018 Aug;298(2):289–295. doi: 10.1007/s00404-018-4798-1.

Dagli AI, Mueller J, Williams CA. Angelman Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., eds. Gene Reviews. Seattle, WA: University of Washington; 1993–2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1144/>. Aktualisiert am 21. Dezember 2017. Aufgerufen am 27. Juni 2019.

Driscoll DJ, Miller JL, Schwartz S, Cassidy SB. Prader-Willi Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, et al., eds. Gene Reviews. Seattle, WA: University of Washington; 1993–2019. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1330/>. Aktualisiert am 14. Dezember 2017. Aufgerufen am 27. Juni 2019.

Mak ASL, Ma TWL, Chan KYK, Kan ASY, Tang MHY, Leung KY. Prenatal diagnosis of 5p deletion syndrome: Report of five cases. J Obstet Gynaecol Res. 2019 Apr;45(4):923–926. doi: 10.1111/jog.13911.

Nguyen JM, Qualmann KJ, Okashah R, Reilly A, Alexeyev MF, Campbell DJ. 5p deletions: Current knowledge and future directions. Am J Med Genet C Semin Med Genet. 2015 Sep;169(3):224–38. doi: 10.1002/ajmg.c.31444.